Aus der Wilhelm-Conrad-Röntgen-Klinik
der Justus Liebig-Universität Gießen
(Direktor: Professor Dr. Dr. G. Barth)

Radiochemotherapeutische Synzytostase mit L-Asparaginase an Normalgeweben

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
des Bereichs Humanmedizin
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Erika Buch
aus Hanau

Gießen 1972

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545921_0061

Aus der Wilhelm-Conrad-Röntgen-Klinik
der Justus Liebig-Universität Gießen
(Direktor: Professor Dr. Dr. G. Barth)

Radiochemotherapeutische Synzytostase mit L-Asparaginase an Normalgeweben

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
des Bereichs Humanmedizin
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Erika Buch
aus Hanau

Gießen 1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan:	Professor Dr. Hj. Staudinger
Referent:	Professor Dr. D. Ringleb
Korreferent:	Professor Dr. L. Rausch

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	Allgemeines zu radiologisch-zytostatischer Kombinationsbehandlung	5
II.	L-Asparaginase als Zytostatikum	8
III.	Zielsetzung der eigenen Experimente	11
IV.	Allgemeine Angaben zu den Versuchsanordnungen	11
	A. Dosierung und Applikation des Zytostatikums	12
	B. Tiermaterial und -haltung	13
	C. Bestrahlungsanlage	14
	D. Statistische Methoden	14
V.	Spezielle Versuchsanordnungen	15
	A. Methodik der Bestimmung des Verhaltens des Hodengewichtes von Mäusen	15
	B. Methodik der Bestimmung der Abheilungsgeschwindigkeit von Ohrstanzlöchern von Mäusen	17
	C. Anordnung zur Beobachtung des Ablaufs der Strahlenreaktion am mit einer nekrotisierenden Strahlendosis teilbestrahlten Mäuseschwanz	19
VI.	Versuche und Ergebnisse	22
	A. Feststellungen bezüglich des Hodengewichtsverhaltens nach Bestrahlung, L-Asparaginase- und Kombinationsbehandlung	22

Seite

B. Feststellungen bezüglich der Abheilungsgeschwindigkeit von Ohrstanzlöchern von Mäusen nach Strahlen-, Asparaginase- und kombinierter Behandlung 27

C. Feststellungen bezüglich der Veränderung der Reaktion des teilbestrahlten Mäuseschwanzes durch L-Asparaginase-Nachbehandlung 33

VII. Diskussion der Ergebnisse 39

VIII. Zusammenfassung 41

IX. Literaturverzeichnis 42

X. Lebenslauf der Verfasserin 51

Abkürzung

Aase = L-Asparaginase (L-Asparaginamidohydrolase)

I. Allgemeines zu radiologisch-zytostatischer Kombinationsbehandlung

Ausführliche Übersichtsarbeiten jüngeren Datums zu diesem Themenkreis liegen von BANE et al. (1957), BARTH et al. (1966), HODNETT (1963), KLIGERMANN (1960, 1965), MAISIN (1963), PAPAC (1962), RAVENTOS (1966), RINGLEB (1967) wie VERMUND et al. (1968) vor.

Operative Maßnahmen, bisweilen ergänzt durch radiologische Vor- oder Nachbehandlung bzw. beides, sind in der Geschwulstbehandlung mit kurativem Therapieziel gebräuchlich. Strahlentherapie allein stellt bei allen Epitheliomen der Haut und bei anderen malignen Tumoren, im wesentlichen des gynäkologischen und rhinolaryngologischen Bereiches, ebenfalls eine kurative Heilungsmöglichkeit dar (BECKER 1968). Kanzerotoxisch wirksame Chemotherapeutika wurden bislang zumeist nur mit palliativer Zielsetzung eingesetzt, "wenn die Absicht, definitiv zu heilen, aufgrund diagnostischer Einsicht in das Krankheitsstadium und des Wissens um den zu erwartenden Krankheitsablauf von vornherein aufgegeben worden war." (RINGLEB 1967). Sie scheinen sich jedoch in Kombination mit chirurgischen, chirurgisch-radiologischen oder radiologischen Maßnahmen teilweise positiv auf die Endheilungsziffern ausgewirkt zu haben, so daß Chemotherapeutika in Verbindung mit Strahlentherapie und/oder chirurgischen Eingriffen auch Teil der kurativen Malignombehandlung werden könnten (BARTH et al. 1966; RINGLEB 1967, 1970).

Bei der Kombination von lokaler Einwirkung ionisierender Strahlung und allgemeiner Medikation von Zytostatika gibt es, da die beiden Agentien nicht wirkungsgleich, sondern nur wirkungsähnlich sind (RINGLEB 1967; VERMUND et al. 1968), mehrere Möglichkeiten des lokalen Endresultates: Beide können sich in ihrer Wirkung gegenseitig beeinträchtigen und somit einen geringeren Kombinationseffekt verursachen als jeder Einzeleffekt (Antagonismus). Kumulieren die Einzeleffekte, ist entweder der Kumulationseffekt gleich oder nahezu gleich der Summe der Einzeleffekte (Addition bzw. Subaddition) oder er ist größer als die Summen der Einzeleffekte (Synergismus), wobei als Potenzierung die Kombination zweier, jedes für sich wirksamer Agentien bezeichnet wird, als Sensibilisierung

die Kombination eines aktiven mit einem inaktiven Agens. Diese pharmakologische Definition wurde von SARTORELLI (1965) übernommen. EICHHOLZ (1957) unterscheidet zwischen heterotopem und homotopem Synergismus, je nachdem, ob der Angriffspunkt beider Agentien gleich oder verschieden ist. Bei der Kombination von Strahlung und Chemotherapeutika dürfte es sich um heterotopen Synergismus handeln, denn es besteht nach BARTH et al. (1966) ein wesentlicher Unterschied schon in der Verteilung der Elementarvorgänge.

Die Problematik der radiologisch-zytostatischen Kombinationsbehandlung liegt darin, daß sowohl Strahlung als auch Zytostatika keine spezifische Wirkung auf maligne Zellen haben, sondern gleichzeitig auch auf normale Zellen einwirken. Die von BERGONIE und TRIBONDEAU 1906 aufgestellte Regel, die besagt, daß die Strahlenempfindlichkeit von Zellen proportional deren reproduktiver Aktivität zu- und mit ihrem Differenzierungsgrad abnimmt, gilt gleichermaßen für die Nukleotoxine, die Zytostatika (HEILMEYER 1946) oder Radiomimetika (DUSTIN sen. 1947; RINGLEB 1967, 1970) genannt werden. GROSS et al. (1957) bezeichneten das analoge Verhalten auf Zytostatika als relative Selektivität, d. h., maligne Zellen werden durch ihre verstärkte Protein- und Nukleoproteinsynthese auch relativ stärker geschädigt.

Eine radiologisch-zytostatische Malignombehandlung ist also nur über eine allgemeine Synzytostase im Bestrahlungsareal möglich (RINGLEB 1967).

Durch zusätzliche medikamentöse Einwirkung wird die lokale Strahlentoleranzgrenze in der intakten Tumorumgebung herabgesetzt (FLETCHER et al. 1963; HOWE et al. 1964). Um Optimales im Sinne eines therapeutischen Synergismus KLIGERMANNS (1965) zu erreichen, müßte bei radiochemotherapeutischer Kombinationsbehandlung eine unerwünschte Addition der Nebenwirkungen auf normale Zellen der engeren Umgebung des Malignoms durch proportional stärkere Tumorhemmeffekte ausgeglichen werden, also eine differenzierte Sensibilisierung etwa durch Tumorzellsynchronisation (RINGLEB 1970) erfolgen. Die unerwünschten synzytostatischen Nebenerscheinungen stellen in praxi oftmals den Therapie-

erfolg in Frage. BARTH et al. 1966 berichten ausführlich über klinische Komplikationen durch synzytostatische Nebeneffekte bei Radiochemotherapie. Im Vordergrund stehen solche hämatologischer Organe wie iatrogene Enterokolitis und Cystitis; eine Verstärkung der Strahlenreaktion an Haut und sichtbaren Schleimhäuten, die Zunahme der Strahlenschädigung der Nieren, des ZNS, der Augenlinsen, Lungen und Gonaden wie der Hemmung des Wachstums kindlicher Organe bei vor- wie gleichzeitiger oder nachfolgender zytostatischer Behandlung werden aus klinischen Beobachtungen heraus als möglich diskutiert.

Mit der experimentellen Abklärung dieser Fragen ist seit einigen Jahren unser Arbeitskreis beschäftigt (KRATZ 1970; RINGLEB 1967, 1968, 1969; RINGLEB et al. 1968, 1969 a-c; SAUER 1968; SCHNEIDER 1967, STECKENMESSER 1968), der Beweise dafür liefern konnte, daß einige der oben erwähnten Befürchtungen zu Recht bestehen. Die Autoren beobachteten Kumulationseffekte an germinativem, granulativem und jugendlichem Proliferationsgewebe und eine Veränderung des zeitlichen Ablaufes der Strahlenreaktion bei Radiochemotherapie mit den Alkylantien Endoxan und Natulan, dem Antimitotikum Proresid, dem Antimetaboliten 5-Fluoruracil und dem Antibiotikum Actinomycin C. Als Modelle dienten die Abnahme des relativen Hodengewichtes von Mäusen, die Verzögerung des Schwanzlängenwachstums jugendlicher Mäuse, die Abheilungszeit von Stanzlöchern in Mäuseohren und die Reaktion teilbestrahlter Mäuseschwänze.

Wir haben es uns zur Aufgabe gemacht, die Reihe der Untersuchungen mit dem Enzym L-Asparaginase (Aase), dem prima vista kaum radiomimetische Eigenschaften zukommen sollten, weiterzuführen, und es auf synzytostatische Effekte hin in entsprechenden Kombinationsversuchen mit ionisierender Strahlung zu untersuchen.

II. L-Asparaginase als Zytostatikum

1953 wurde von KIDD eine wachstumshemmende Wirkung von Meerschweinchenserum auf Ratten- und Mäuselymphome beobachtet. Als entscheidender Faktor hierfür wurde 1961 von BROOME die L-Asparaginase (Aase) angenommen, die, wie seit 1922 (CLEMENTI) bekannt ist, im Serum von erwachsenen Meerschweinchen in einer verhältnismäßig hohen Konzentration vorhanden ist. Nach Angaben von BOIRON et al. (1968 b) liegt diese etwa bei 100 E/ml Serum. MASHBURN et al. (1964) isolierten das Enzym aus E. coli und erzielten mit dieser Präparation den gleichen zytostatischen Effekt auf Mäuselymphome. Außer in anderen Bakterien und verschiedenen Tierarten wurde Aase in der folgenden Zeit auch in Pflanzen und Pilzen nachgewiesen (ADAMSON et al. 1968; RAMADAN et al. 1958; ROWLEY et al. 1967). Die in der Klinik verwendete Aase ist vorwiegend bakteriellen Ursprungs. Die noch beschränkte Verfügbarkeit des Enzyms erklärt sich daraus, daß zur Darstellung von 1 g Enzym 1000 l Colikultur benötigt werden (Nachr. Chem. u. Techn. 16, 223, 1968). Die Kristallisation gelang erstmals den Farbenfabriken BAYER AG, die das Enzym ECZ-A als CRASNITIN^{R} in den Handel brachten, und die es uns freundlicherweise zur Verfügung stellten. CRASNITIN hat ein Molekulargewicht von 130 000.

Die Wirkung von Aase als L-Asparaginaamidohydrolase besteht darin, bereits synthetisiertes Asparagin in NH_3 und Asparaginsäure zu spalten; aus dieser, die Zwischenglied vieler anderer metabolischer Wege ist, baut die Asparaginsynthetidase in Gegenwart von ATP und Mg-Ionen durch Umamidierung der Amidgruppe des L-Glutamins wieder Asparagin auf (BAUER 1969). Schon durch einen relativ niedrigen Serum-Aase-Spiegel von 10 IU/ml wird nach Angaben von MILLER et al. (1968) der Asparagingehalt des Blutes auf Null gehalten. Die Halbwertszeit von Aase ECZ-A beim Menschen beträgt 11 Stunden, bei der Maus 2,5 Stunden. In aaseresistenten Zellen wird unter Aase-Zufuhr die Aktivität der Asparaginsynthetidase bis auf das 20fache der Norm gesteigert (PRAGER et al. 1968).

Aasesensible Zellen hingegen sind auf exogen zugeführtes Asparagin essentiell angewiesen; sie verfügen nicht über hinreichende Mengen an Asparaginsynthetidase, deren Bildungsmöglichkeit sie durch neoplastische Transformation verloren haben mögen. Auf diesem "Doppeleffekt des Asparaginstoffwechsels" mancher Zellen beruht die tumorhemmende Wirkung der Aase, die sich allerdings bei einigen bestimmten Tumorzellarten nur bemerkbar macht (BAUER 1969; BROOME et al. 1967; CAMPBELL et al. 1967; CARDINALI 1969; GALLMEYER et al. 1968; GRUNDMANN 1969; HOROWITZ et al. 1968 a-c; OETTGEN et al. 1969; OLD et al. 1967 a und b). OERKERMANN et al. (1969) ziehen in Erwägung, ob der wachstumshemmende Effekt der Aase auf Neoplasmen nicht in manchen Fällen auf gleichzeitig vorhandene Glutaminaseaktivität zurückzuführen ist, die mit etwa 3-6-10 % angegeben wird. Mit Meerschweinchenserum, das ausschließlich Aase, aber keine Glutaminaseaktivität enthält, läßt sich kein wachstumshemmender Effekt auf Hela-Zellkulturen erreichen.

Aase ist wirksam in 50 % der durch Röntgenstrahlen induzierten und 30 % der spontanen Mäuseleukämien (BOYSE et al. 1967; GRUNDMANN 1969), beim primären Lymphosarkom des Hundes (OLD et al. 1967 a und b), bei einigen soliden Impftumoren der Ratte (ALINIS et al. 1958; DOLOWY et al. 1968; GRUNDMANN 1969; JAMESON et al. 1956; KWAH et al. 1961) und in Hela-Zellkulturen (KIM et al. 1969; OERKERMANN 1969). Positive Erfahrungen mit der Enzymtherapie in der Humanklinik wurden im wesentlichen bei Lymphoblastenleukämie, gelegentlich bei akuten Schüben anderer Leukämien gemacht. Ausführliche Erfahrungsberichte legten unter anderem HILL et al. (1967), OETTGEN et al. (1968, 1969), SCHMIDT et al. (1968, 1969) und TALLAL et al. (1968) vor. Als optimale Dosierung werden von verschiedenen Autoren (BOIRON et al. 1968; COONEY et al. 1968) 1000 IU/kg empfohlen, weil niedrigere Dosen eventuell die Entwicklung von resistenten Zellstämmen hervorrufen, d. h., eine Steigerung der Asparaginsynthetidaseaktivität bewirken könnten (MARQUARDT 1968). Da in Nieren- und Prostatakarzinomzellen keine Asparaginsynthetidase gefunden wurde, kann damit gerechnet werden, daß sich noch weitere Palliativindikationen für Aase ergeben könnten (PRAGER et al. 1969; SCHMIDT et al. 1969). Für Arginase könnte ähnliches gelten (BACH et al. 1965), wie auch unter dem Eindruck von Aaseberichten proteinarme Diät mit hinreichendem Erfolg versucht wurde (HALIKOWSKY et al. 1969).

Bei den Nebeneffekten einer Aasemedikation ziehen CARBONE et al. (1969) eine Beteiligung der L-Glutaminaseaktivität von Aase in Betracht. Es

handelt sich zum Teil um allergische und auf Verunreinigungen der Präparationen mit Endotoxinen beruhende Phänomene (SCHEIN et al. 1969). Wenn in der Klinik auch übereinstimmend wiederholt festgestellt wurde, daß Aase die normale Hämatopoese nicht beeinträchtigt (OETTGEN et al. 1969; SCHMIDT 1968), so steht doch experimentell fest, daß normale Lymphozyten nur graduell weniger geschädigt werden als leukämische (SCHREK et al. 1967). Die Einbaurate von Asparagin in die Milz wird unter Aase niedriger, wie aus Untersuchungen von Gewebsfraktionen hervorging (MASHBURN et al. 1968). Die ersten Mitosezyklen in der Rattenleber werden nach partieller Hepatektomie in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Verabreichung von Aase selektiv gehemmt (BECKER et al. 1967; BROOME 1968; HOROWITZ et al. 1968 a-c). Von ADAMSON et al. wurden 1968 Mißbildungen nach Aasemedikation trächtiger Kaninchen bemerkt. LORKE et al. (1969) fanden den gleichen teratogenen Effekt von Aase bei Ratten, stellten jedoch gleichzeitig fest, daß sie in ihrem Ausmaß von der verabreichten Dosis abhängig sind. Über Immunsuppresion durch Aase wird berichtet (HOBIK 1969; SCHMÄHL 1969; SCHULTEN et al. 1969; SCHWARTZ 1969), wobei wiederum von verschiedenen Autoren die Beteiligung der L-Glutaminaseaktivität von Aase in Erwägung gezogen wird (OERKERMANN et al. 1969.). Zentralnervöse Störungen wurden unter Aase gesehen (SCHMÄHL 1969; HASKELL et al. 1969), wobei CARBONE et al. (1969) EEG-Veränderungen und Erscheinungen fanden, die einem Delirium tremens glichen. Vielfachen Untersuchungen zur Folge soll Aase neben Hypalbuminämie und Hypocholesterinämie Hypolipämie und hepatische Lipoidose verursachen (CANELLOS et al. 1969; GROSS et al. 1969; GRUNDMANN 1969; HARRIS et al. 1969; OETTGEN et al. 1969). Die häufigen pathologischen Veränderungen der Leberfunktionswerte unter Aase könnten nach HOROWITZ et al. (1968 a-c) damit zusammenhängen, daß die Asparaginsynthetidaseaktivität in den Leberzellen besonders niedrig ist. Vielfältigen Störungen des Blutgerinnungssystems und Hypalbuminämie scheinen im wesentlichen Folge der Beeinträchtigung der hepatischen Albuminsynthese zu sein (GALLMEYER et al. 1969); die Halbwertszeiten

hepatischer Gerinnungsfaktoren, Thromboplastinzeit und Prothrombinzeit (CAPIZZI et al. 1969) sind jedenfalls entsprechend kurz, und es ist durch BETTIGOLE et al. (1969) mit J 131-Fibrinogen nachgewiesen, daß die Hypofibrinogenämie unter Aase nicht durch erhöhten Verbrauch, sondern durch verminderte Bildung bedingt ist.

III. Zielsetzung der eigenen Experimente

Nachdem doch eine beträchtliche Reihe von Nebenwirkungen der Aase bekannt sind, die es gestatten, das Medikament doch eben noch unter die Radiomimetika im weiteren Sinne (DUSTIN sen. 1947; RINGLEB 1970) einzureihen, war es interessant, es in radiochemotherapeutischen Kombinationsversuchen zunächst an normalem Gewebe zu erproben, wie es in unserem Arbeitskreis bereits für andere zytostatische Substanzen geschehen ist. Hierzu konnten einige der von KRATZ (1970), RINGLEB (1967, 1968 a-d, 1969), RINGLEB et al. (1968, 1969 a-c), SAUER (1968), SCHNEIDER (1967) und STECKENMESSER (1968) bereits benutzten Testmodelle herangezogen werden, die die Beobachtung von Kombinationseffekten an germinativem und granulativem Proliferationsgewebe ermöglichen (Verhalten des Hodengewichts und von Ohrstanzlöchern von Mäusen) und mit deren Hilfe auch die eventuelle Veränderung des zeitlichen Ablaufes der Strahlenreaktion durch zytostatische Nachbehandlung zu verifizieren ist (Teilbestrahlung von Mäuseschwänzen mit einer nekrotisierenden Dosis).

IV. Allgemeine Angaben zu den Versuchsanordnungen

Die als Kontrollen bezeichneten Tiere, die bei der statistischen Auswertung die Bezugsgröße darstellen, und die jeweils nur bestrahlten Tiere erhielten zu den gleichen Zeitpunkten wie die unter Aase stehenden Tiere als Placebo physiologische Kochsalzlösung, um durch den Injektionsstress hervorgerufene Effekte nicht einseitig in die Ergebnisse mit einzubeziehen. Die nur

aase-behandelten und die Kontrolltiere wurden jeweils zur Bestrahlungszeit der bestrahlten Tiere in die Bestrahlungssituation gebracht, um das Stressmoment der Fesselung gleich verteilt zu haben. Bei Bestrahlung wie Injektionen wurde die Reihenfolge der Käfige gewechselt, um zu vermeiden, daß die Tiere eines Käfigs immer zu Ende, die anderen immer zu Beginn der Behandlungszeit therapiert wurden. Behandlung und Bestrahlung erfolgten nachmittags oder abends, um einen eventuellen Einfluß der Tagesperiodik auf die Versuchsergebnisse einzuschränken (ASCHOFF 1964).

A. Dosierung und Applikation des Zytostatikums

Die Dosierung sollte ursprünglich in Therapeutischen Einheiten (TE) vorgenommen werden, um eine quantitative Vergleichsmöglichkeit mit anderen Zytostatika zu schaffen, wobei 1 TE = 1 % der DL_{50} (DRUCKREY et al. 1963). Die DL_{50} liegt bei Aase jedoch so hoch, daß es dem Hersteller wie uns aus finanziellen Gründen nicht möglich war, sie zu bestimmen. Wir nahmen deshalb die Dosierung in Internationalen Einheiten (IU) vor, wobei gilt: 1 IU entspricht der Menge Enzym, die in 1 min 1 µ Mol NH_3 bei 37° C und optimalem pH freisetzt.

Wir verabreichten 5 - 20 mal 600 - 800 IU/kg Mäusen intraperitoneal, womit wir uns im Bereich des experimentell und klinisch Üblichen befanden. 1 ccm der endgültigen Lösung war für 5 Tiere gedacht, so daß 1 Tier die für sein Körpergewicht notwendige Menge Substanz in 0,2 ml Flüssigkeit erhielt. Die Aase-Originalampulle enthält 2000 IU, die auf 10 ml physiologische Kochsalzlösung zur Stammlösung angesetzt werden, die dementsprechend 200 IU/ccm enthielt. Die richtige Dosierung in IU/kg ergab sich, indem die Stammlösung nach folgender Tabelle mit physiologischem NaCl verdünnt wurde:

Gewicht von 5 Tieren (g) :	ml Stammlösung sind zu verdünnen auf 1 ml für		
	400 IU/kg	600 IU/kg	800 IU/kg
100	0,20	0,30	0,40
110	0,22	0,33	0,44
120	0,24	0,36	0,48
130	0,26	0,39	0,52
140	0,28	0,42	0,56
150	0,30	0,45	0,60
160	0,32	0,48	0,64
170	0,34	0,51	0,68
180	0,36	0,54	0,72
190	0,38	0,57	0,76
200	0,40	0,60	0,80

B. Tiermaterial und -haltung

Unsere Versuchstiere fanden im Tierstall der Abteilung von Herrn Prof. Dr. L. RAUSCH Aufnahme, der die geschilderten Regeln eingeführt hat.

Die für die Versuche benötigten Mäuse entstammten einem Gruppen-Inzucht-Stamm der Tierzuchtanstalt Ivanovas, Kissleg/Allgäu. Bei Anlieferung wogen die Tiere etwa 20 g und wurden bis zu dem im speziellen Teil jeweils angegebenen Gewicht gehalten. Die Lufttemperatur im Tierstall wurde durch thermostatische Kontrolle auf 22 bis 25° C gehalten. Die Haltung von 10 bis 12 Mäusen erfolgte in Makrolon-Käfigen (JUNG 1962) mit Deckeln aus verzinktem Stahldraht und Weichholzgranulat als Einstreu. Zweimal wöchentlich erfolgte Umsetzung in frische Käfige, wobei diese mit 1 %iger Trichlorollösung gewaschen wurden, um das Auftreten von Epidemien zu vermeiden. Die Käfigdeckel wurden einmal wöchentlich mit 1 %iger, die Glastrinkröhrchen täglich und die Plastiktrinkflaschen zweimal wöchentlich mit 0,1 %iger Trichlorollösung behandelt. Der Tierstall wurde ausschließlich in der dafür vorgesehenen Arbeitskleidung betreten; die Hände wurden vor und nach jedem Arbeiten mit den Tieren mit Tego gewaschen. Dem Trinkwasser wurde stets 0,005 % Chloramin zugesetzt. Pinzetten, Gummihandschuhe etc. wurden mit

0,5 % Zephirol-Lösung behandelt. Die Ernährung der Tiere erfolgte mit "sniff"-Trockenmischfutter (Intermast GmbH, Bockum-Hövel) aus entsprechenden Vertiefungen der Käfigdeckel. Die Kennzeichnung der Tiere wurde mit Karbolfuchsin oder Pikrinsäure an Extremitäten, Kopfmitte und Schwanzwurzel vorgenommen.

C. Bestrahlungsanlage

Als Bestrahlungsvorrichtung wurde eine nach Angaben von BARTH et al. (1964) umgebaute Materialprüfanlage MG 150 der Firma C.H.F. Müller, Hamburg, benutzt. Ihr Wirkungsbereich erstreckt sich nach Umbau des Tubusaufsatzes und nach Anbringung einer zweiten Röhre von 25 bis 150 kV und gestattet tierexperimentelle Untersuchungen aller Art unter konstanten Bedingungen. Durch eine zwischengeschaltete Dosisintergrationsvorrichtung (Simplex-Dosimeter; Physikalisch-Technische Werkstätten, Freiburg/Brsg.) schaltet der Röhrenstrom automatisch ab, sobald eine eingestellte Dosis in der Mikroschlauchkammer (Faktor 5,5) oder Normalkammer (Faktor 1,0) erreicht ist. Die für die einzelnen Versuche spezifischen Bestrahlungsbedingungen finden sich bei den speziellen Angaben zu den Versuchsanordnungen.

D. Statistische Methoden

Der Vergleich zweier Prozentsätze von Ereignissen erfolgte im t-Test nach der Formel

$$t = \frac{p_1 - p_2}{\sqrt{\frac{p_1 \quad (100-p_1)}{N_1} \quad \frac{p_2 \quad (100-p_2)}{N_2}}}$$

wobei N_1 und N_2 = Anzahl der Meßwerte, p_1 und p_2 = Prozentsätze.

Zur Berechnung von Varianzen von Meßwerten um einen Mittelwert wurde folgende Formel benutzt

$$s^2 = \frac{S(x_i)^2 - \frac{(S x_i)^2}{N}}{N - 1}$$

wobei N = Anzahl der Meßwerte, x_i = Einzelmeßwert.

Der Vergleich zweier Mittelwerte von Meßwertgruppen über den t-Test erfolgte nach

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{N_1} + \frac{s_2^2}{N_2}}}$$

wobei $\bar{x}_1$ und $\bar{x}_2$ zu vergleichende Meßwerte (Mittelwerte), s_1^2 und s_2^2 = zugehörige Varianzen, N_1 und N_2 = Anzahl der Versuche.

Die Wahrscheinlichkeit P konnte dann in einer t-Verteilungstabelle nachgeschlagen werden. Für die Rechenoperationen stand ein Tischcomputer zur Verfügung. Für dessen Programmierung danken wir Herrn Dipl.-Physiker K. RÖDEL.

V. Spezielle Versuchsanordnungen

A. Methodik der Bestimmung des Verhaltens des Hodengewichtes von Mäusen

Mit der Bestimmung der Verminderung des Hodengewichtes als Maß für das Depopulationsstadium des Säugetierhodens nach Bestrahlung arbeiteten zuerst ESCHENBRENNER et al. (1957). Nach TRAUTMANN (1963) kann es durch radiogenen Einfluß auf den Säugetierhoden zu einer Gewichtsminderung in der Größenordnung von 80 % des ursprünglichen Gewichtes kommen, wobei 60 % davon durch den Schwund an Spermatogonien

bedingt sind, während der übrige Gewichtsverlust durch eine Abnahme des interstitiellen Gewebes zu erklären ist. Die Strahlendosis von 100 R. die nach vier Wochen nach KOHN et al. (1955) eine Hodengewichtsverminderung von 50 % bewirkt, wurde auch in unserer Versuchsreihe angewandt. Über den Histomechanismus der strahlenbedingten Hodendepopulation sowie über die Wirkung zytostatischer Substanzen auf männliches Keimepithel berichtet ausführlich SCHNEIDER (1967) in seiner aus unserem Arbeitskreis hervorgegangenen Dissertation, auf dessen Arbeit an dieser Stelle verwiesen wird. Ihm gelang der Nachweis, daß bei fraktionierter simultaner Kombination von ionisierender Strahlung und Endoxan in Bezug auf die Hodengewichtsabnahme von Mäusen der Kumulationseffekt subadditiven bis additiven Charakter haben kann. Einen sub- bis superadditiven Kumulationsmechanismus stellten in Fortsetzung der Versuchsreihe STECKENMESSER (1968) für Natulan, Proresid wie 5-Fluoruracil und KRATZ (1970) für Aktinomycin fest.

Die Methodik entsprach der in unserer Arbeitsgruppe früher ausgearbeiteten (RINGLEB 1967, 1968 b; SCHNEIDER 1967). Zur Bestrahlung der Testes kamen die NMRI-Mäusemännchen unmarkotisiert in einen aus zwei zusammenschiebbaren Teilen bestehenden halbröhrenförmigen Zinkblechkäfig mit Aussparungen an der planen Ventralseite, durch die eine Verlagerung der äußeren Genitale nach außen möglich war (Abbildung 1).

Durch leichtes Einklemmen der Scrotumwurzel wurde ein Zurückgleiten der Testes in den Käfig verhindert. Der Schwanz wurde mit Leukoplast an der Käfigaußenseite fixiert. Mit der Ventralseite nach oben wurde der Käfig in einer halbröhrenförmigen Bleivorrichtung so gelagert, daß die Oberkante der Bleimulde sich mit der Ventralseite des Käfigs in einer Ebene befand, und das Scrotum freilag. Auf das Scrotum wurde leicht die Normalkammer des Simplex-Dosimeters gelegt. Benutzt wurde die Röhre MÖD 150; 150 kV, 0,5 mm Cu-Filter, HWD 0,65 mm Cu, Fokus-Kammer-Abstand 12,5 cm. Der 2,5 cm-Rundtubus wurde so an die Bleiwand angelegt, daß der Zentralstrahl parallel zur ventralen Käfigwand zwischen Scrotum und Kammer verlief. Um eine homogene Dosisauslastung zu gewährleisten, wurde der Käfig nach halber Bestrahlungszeit um 180° gedreht, so daß die gewünschte Strahlendosis je zur Hälfte von rechts und links appliziert wurde. Durch die tangentiale Ausrichtung des Strahlenbündels wurde angestrebt, unter weitmöglichster Schonung des Abdomens zu bestrahlen, was nach Messungen von PFEIFF (1965) und SCHNEIDER (1967) der Fall war. Das Körpergewicht der Tiere wurde am 1., 11. und 21. Versuchstag protokolliert.

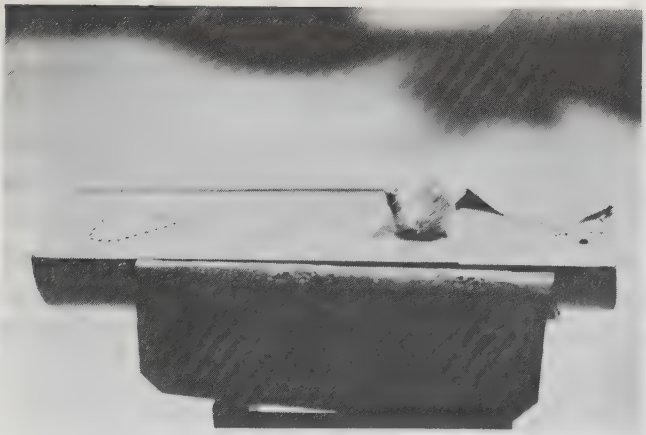


Abbildung 1: Versuchsanordnung zur Bestrahlung von Mäusehoden unter weitgehender Abschirmung des Abdomens

Am 20. Tag nach Behandlungsbeginn, den SCHNEIDER (1967) optimal gefunden hatte, wurden die Tiere gewogen und anschließend mit Chloroform getötet. Die herauspräparierten Testes wurden sofort nach Präparation gewogen. Die Ablesung des Hodengewichtes in g erfolgte bis auf 6 Stellen nach dem Komma.

B. Methodik der Bestimmung der Abheilungsgeschwindigkeit von Ohrstanzlöchern von Mäusen

HEITE (1955 et al. 1956) hat dargelegt, daß sich mittels der Verfolgung der Abheilungsvorgänge an einem Stanzloch im Kaninchenohr die gewebsbeeinträchtigende Wirkung unter anderem auch ionisierender Strahlen quantitativ und vergleichend erfassen läßt. RAUSCH (1961, 1962 a und b, et al. 1962) arbeiteten mit diesem Modell, beschrieb histologische Details des Abheilungsvorganges und konnte in seiner Arbeitsgruppe mit Stanzlöchern in Mäuseohren ebenfalls quantitativ und vergleichend arbeiten (QUAST 1966; RAUSCH 1965, et al. 1966). Von Untersuchungen von HOPPE (1962), KARRER (1963) und SCHAUDIG (1962) her ist bekannt, daß die

Ausbildung von Granulationsgewebe prinzipiell durch Zytostatika gehemmt werden kann, wie dies auch durch ionisierende Strahlen möglich ist (COTTIER 1966). KRATZ (1970), RINGLEB (1967) und STECKENMESSER (1968) gelang es zu sichern, daß die Wundheilung gestanzter Mäuseohren nicht nur durch einzeitige Bestrahlung mit 1000 R, sondern auch durch Applikation von Endoxan, Natulan, Proresid, 5-Fluoruracil und Aktionomycin C verzögert wird, und daß bei kombinierter Behandlung diese Verzögerung wesentlich ausgeprägter ist als bei Einsatz der Einzelagentien; sie glaubten, damit einen Kumulationseffekt hinsichtlich der Proliferationsaktivität von Bindegewebe und/oder Hautepithel bei kombinierter radiologisch-zytostatischer Behandlung nachgewiesen zu haben.

Die eigenen Versuchsanordnungen entsprechen denen von RINGLEB (1967, 1968 d). Die weiblichen Tiere kamen in einen vorhandenen speziellen Ohrbestrahlungskäfig (Abbildung 2). Mit einer Silberstahlstanze wurden die aus diesem Drahtkäfig herausragenden Ohren in ihrem zentralen Anteil gegen eine Holzplatte gestanzt, wobei die Verletzung größerer Gefäße vermieden wurde. Zur Bestrahlung wurde jeweils das rechte Ohr auf Leukovlies angedrückt und vor einem 1cm-Rundtubus so fixiert, daß das ganze Ohr ausgestrahlt wurde. Benutzt wurde Röhre FA 100/25; 30 kV, 25 mA, 0,3 mm Al-Filter, HWD 0,2 mm Al, FHA 7,5 cm, Dosisleistung 4000 R/min. Die applizierte Dosis betrug in 15 sec Bestrahlungszeit 1000 R.

Zur Beobachtung der Abheilungsgeschwindigkeit wurden die Tiere anfangs jeden zweiten Tag, später alle vier Tage kontrolliert und die Ergebnisse festgehalten. Hierbei wurden die Stanzlöcher mit dem bloßen Auge gegen eine helle Lichtquelle als Hintergrund beurteilt. Es wurden folgende Stadien unterschieden:

0 = Loch größer als bei Stanzung

I = Loch gleich groß wie bei Stanzung

II = Loch deutlich kleiner als bei Stanzung

III = Loch geschlossen

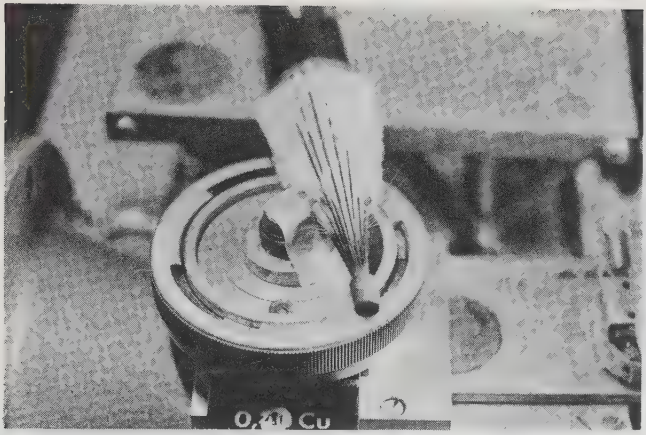


Abbildung 2: Versuchsanordnung zur Bestrahlung von Mäuseohrstanzlöchern

C. Anordnung zur Beobachtung des Ablaufs der Strahlenreaktion am mit einer nekrotisierenden Strahlendosis teilbestrahlten Mäuseschwanz

MOTTRAM et al. (1940) wie AURAND (1949) befaßten sich mit Beobachtungen des Ablaufs der Strahlenreaktion an in ganzer Länge bestrahlten Mäuseschwänzen. RAUSCH (1961) beschäftigte sich zuerst mit der Bestrahlung von Schwanzabschnitten und stellte fest, daß dabei der individuell gestreute zeitliche Ablauf der Reaktion von Dosis und Feldgröße abhängig ist.

Im Gegensatz zu RINGLEB (1967, 1968 d) und SAUER (1968) wurden die Versuche mit nicht narkotisierten Tieren vorgenommen. Zur Applikation der nekrotisierenden Strahlendosis wurden die Tiere in einer vorhandenen Bestrahlungsrosette untergebracht (Abbildung 3 und 4).

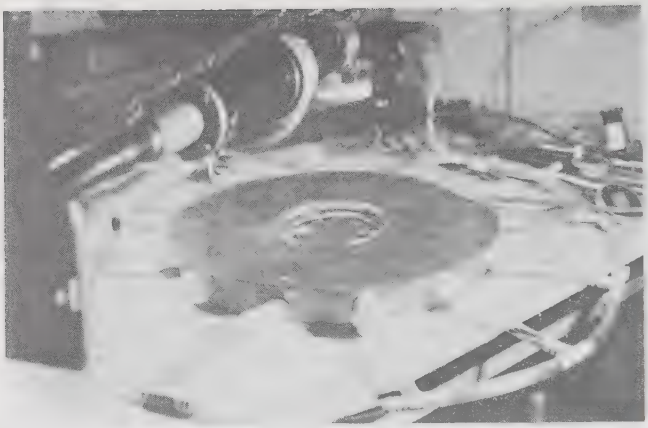
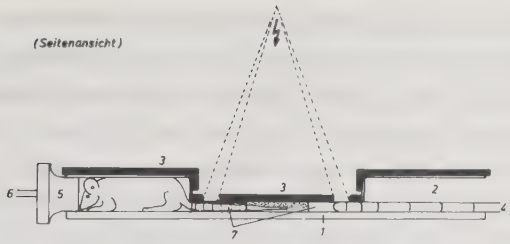


Abbildung 3: Versuchsanordnung zur Teilschwanzbestrahlung unnarkotisierter Mäuse

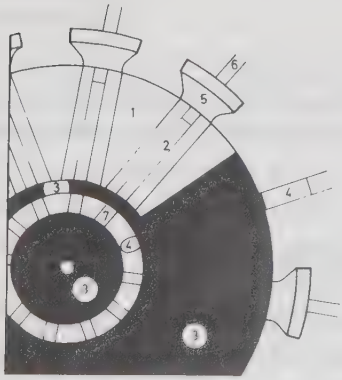
In einer 35 mm starken und 38 cm großen Plexiglasscheibe waren 12 Bohrungen von je 3 cm Durchmesser angebracht; davon dienten 11 der Aufnahme der zu bestrahlenden Tiere, eine enthielt die Meßkammer. Um ein Ruhigstellen der Schwänze während der Dauer der Bestrahlung zu gewährleisten, wurden diese, nachdem sie durch Plastikröhrchen geführt und in entsprechende Führungen der Rosette eingepaßt worden waren, in der zentralen runden Aussparung der Kunststoffscheibe mit Leukoplast fixiert. Eine Mittelplatte und ein äußerer zirkulärer Abdeckring aus je 2 mm dickem Bleiblech schützten den distalen Teil der Schwänze und die Schwanzwurzeln, so daß nur ein 1 cm großer Spalt ausgestrahlt werden konnte. Damit war der von QUAST (1966) gemachten Auflage genüge getan, daß bei Schwanzteilbestrahlungen stets gleichweit proximale Abschnitte getroffen werden müssen, um zu gewährleisten, daß jeweils Gefäße etwa gleichen Kalibers in dem ausgestrahlten Bereich liegen, und somit die durch die Bestrahlung hervorgerufenen Veränderungen und die von diesen abhängigen Reaktionen von gleicher Stärke sind. Die Tierkörper wurden durch 2 mm dickes Bleiblech vor Strahlung abgeschirmt. Ein Schlauchsystem, das an eine Umwälzpumpe angeschlossen wurde, versorgte die Tiere während der Bestrahlungszeit mit Luft. Benutzt wurde Röhre MÖD 150 mit folgenden Bestrahlungsbedingungen: 100 kV, 25 mA, Filter 1,7 mm Al, HWS 1,8 mm Al, FHA 23 cm. Die Dosierung erfolgte mitmessend mit Hilfe der Mikroschlauchkammer des Simplex-Dosimeters. Die Bestrahlungszeit betrug für 8000 R etwa 16 min.



a

1 Bestrahlungsrosette aus Kunststoff
2 Bohrungen zur Aufnahme der Mäuse
3 Bleiabdeckungen (2mm) Deckplatte, Aussenring und Mittelplatte mit Schaumgummi-Polster
4 Dosimeter
5 Verschlussstopsel
6 Luftzuführung (Anschluss an Pumpe)
7 Kunststoff-Röhrchen zur Fixierung der Schwanze

(Aufsicht)



b

1 Bestrahlungsrosette aus Kunststoff
2 Bohrungen zur Aufnahme der Mäuse
3 Bleiabdeckungen. Deckplatte ausserer Ring und Mittelplatte
4 Dosimeter
5 Verschluss-Stopsel
6 Luftzuführung (Anschluss an Pumpe)
7 Kunststoff-Röhrchen zur Fixierung der Schwänze

Abbildung 4: Schematische Darstellung der Versuchsanordnung zur Teilschwanzbestrahlung unnarkotisierter Mäuse.
a) Seitenansicht
b) Aufsicht

Die Einteilung der lokalen Reaktionen in verschiedene Stadien nahmen wir nach einem von RINGLEB (1967, 1968 d) aufgestellten Schema vor, das zusätzlich zu den von RAUSCH et al. (1966) beschriebenen und histologisch untersuchten Reaktionsstadien eines der narbigen Ausheilung ohne Amputation einführte. Wir unterschieden entsprechend folgende Stadien:

E Erythem
Ö Ödem
K Krustenbildung=Erosion

H narbige Ausheilung

St Stauungsödem distal der Bestrahlungsstelle
N Nekrose von der Schwanzspitze sich nach proximal ausbreitend
A Spontanamputation des distalen Schwanzes

Ab dem 10. Tag wurden jeden 3. Tag bis zum 73. Tag post rad. die Schwanzbefunde erhoben und protokollarisch festgehalten. Vor Versuchsbeginn und vom 10. Tag an alle 12 Tage wurde das Körpergewicht der Tiere festgestellt.

VI. Versuche und Ergebnisse

A. Feststellungen bezüglich des Hodengewichtsverhaltens nach Bestrahlung, L-Asparaginase- und Kombinationsbehandlung

Die Versuchsreihe lief in der Zeit vom 5.1.1970 bis zum 25.1.1970. 104 männliche NMRI-Mäuse erhielten innerhalb von 9 Tagen im 48-Stunden-Rhythmus 5mal eine lokale skrotale Bestrahlungsdosis von je 20 R; 52 von diesen Tieren bekamen simultan je 800 IU/kg Aase i.p.. 22 Tieren wurde nur Aase in gleicher Dosierung und Fraktionierung verabreicht. 52 Kontrollen liefen mit. Die Versuchsreihe umfaßte also insgesamt 178 Mäusemännchen. Infolge Fehlinjektion mit Hämatoperitoneum bzw. Hämatoretroperitoneum verstarben zwischenzeitlich 5 der Tiere, so daß folgende

Gruppenstärken verblieben: 50 Kontrolltiere, 51 nur radiologisch behandelte Tiere (5mal 20 R), 22 zur zytostatisch behandelte Tiere (5mal 800 IU/kg Aase) und 50 kombiniert behandelte Tiere (5mal 20 R und simultan 5mal 800 IU/kg Aase).

Aus Tabelle 1 und 2 gehen die mittleren Körpergewichte wie die mittleren Körpergewichtszuwächse am 1., 11. und 21. Versuchstag (g) und die mittleren absoluten Hodengewichte am 21. Versuchstag der verschiedenen Behandlungsgruppen hervor. Bei reiner scrotaler Bestrahlung kommt es zu keiner Reduktion des Gewichtszuwachses gegenüber den Kontrollen, wohl aber ist dieser nach alleiniger Aase-Medikation und Kombinationsbehandlung um etwa 10 % geringer. Die absoluten mittleren Hodengewichte sind dagegen nach Aase-Medikation gleich denen der Kontrollen, hingegen nach Bestrahlung allein oder in Kombination um etwa 30 % reduziert. Da somit Körpergewicht und absolutes Hodengewicht der Mäusemännchen sich durch die beiden angewandten Agentien in verschiedener Richtung verändern, scheint es angebracht, auch noch das relative Hodengewicht in mg Hodengewicht/g Körpergewicht aus den jeweiligen Werten der Einzeltiere zu berechnen. Das Ergebnis findet sich gleichfalls in Tabelle 2. Reine Aasebehandlung mindert den Wert gegenüber den Kontrollen nicht, alleinige Bestrahlung oder solche in Kombination führt zu einer Reduktion des relativen Hodengewichtes um jeweils etwa 30 %. Abbildung 5 zeigt dies in graphischer Darstellung. Bei Vergleich der absoluten und relativen Hodengewichte findet sich kaum ein Unterschied. Im t-Test lassen sich mit Irrtumswahrscheinlichkeiten unter 1 % die Differenzen absoluter wie relativer Hodengewichte zwischen Kontrollen , bestrahlten Tieren und kombiniert behandelten Tieren einerseits, und zwischen letzteren und Aase-Tieren andererseits, sichern, während die Irrtumswahrscheinlichkeiten für Kontrollen gegen Aase-Tiere und nur bestrahlte gegen kombiniert behandelte Tiere nicht gesichert sind.

TABELLE 1: Mittleres Körpergewicht der Versuchstiergruppen zu Beginn, 10 und 20 Tage nach Beginn jeweils fraktionierter Bestrahlung, L-Asparaginase (Aase) - und Kombinationsbehandlung in g und in Prozent der Kontrollen (=100 %) und jeweiliger Körpergewichtszuwachs in g und in Prozent der Kontrollen.

Gruppen	N	Mittleres Körpergewicht						Körpergewichtszuwachs			
		1. Tag		11. Tag		21. Tag		bis z. 11. Tag		bis z. 21. Tag	
		(g)	(%)	(g)	(%)	(g)	(%)	(g)	(%)	(g)	(%)
Kontrollen	50	28,11	100,0	33,26	100,0	35,87	100,0	5,15	100,0	7,76	100,0
5 x 20 R in 9 Tagen	51	27,76	98,9	32,71	98,3	35,98	100,3	4,95	96,1	8,22	105,9
5 x 800 IU/kg Aase in 9 Tagen	22	28,16	100,2	32,75	98,5	35,25	98,2	4,59	89,1	7,09	91,4
5 x 20 R simultan 5 x 800 IU/kg Aase in 9 Tagen	50	28,05	99,8	31,04	93,3	34,72	96,8	2,99	58,1	6,67	86,0

TABELLE 2: Mittlere absolute (mg) und relative (mg/g) Hodengewichte der Versuchsgruppen 20 Tage nach Beginn jeweils fraktionierter Bestrahlung, L-Asparaginase- (Aase) und daraus kombinierter Behandlung, auch in Prozent der Kontrollen (=100 %).

Gruppen	N	Mittleres Hodengewicht absolut (mg)	(%)	relativ (mg/g)	(%)
Kontrollen	50	218,363	100,0	6,1115	100,0
5 x 20 R in 9 Tagen	51	159,364	73,0	4,4393	72,6
5 x 800 IU/kg Aase in 9 Tagen	22	220,166	100,8	6,2560	102,3
5 x 20 R simultan 5 x 800 IU/kg Aase in 9 Tagen	50	152,669	69,9	4,3020	70,4

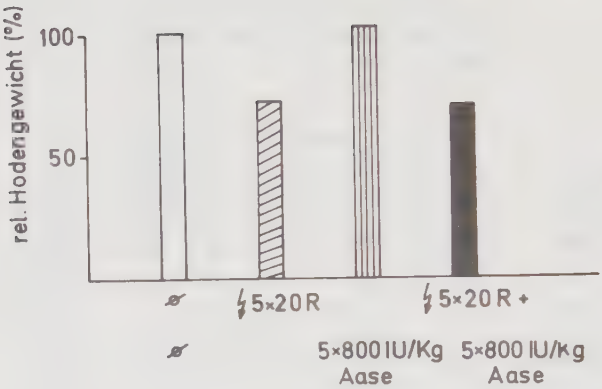


Abbildung 5: Graphische Darstellung der mittleren relativen Hodengewichte von Mäusen der Versuchsgruppen am 20. Tag nach Beginn über 9 Tage im 48-Stunden-Rhythmus fraktionierter skrotaler Röntgen-, L-Asparaginase (Aase)- und daraus kombinierter Behandlung, berechnet aus absolutem Hoden- und Körpergewicht der Einzeltiere.

In früheren radiochemotherapeutischen Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe (KRATZ 1970; RINGLEB 1967, 1968 b, et al. 1969 b; SCHNEIDER 1967) war nur das relative Hodengewicht zu verwenden, weil zwar sämtliche darin eingesetzten Zytostatika, nicht jedoch reine skrotale Bestrahlung zu einer wesentlichen Minderung des Körpergewichtes gegenüber Kontrollen, Bestrahlung wie Zytostatika jedoch zu einer Reduktion des absoluten Hodengewichtes führten. Damals bestand auch noch die Meinung, Körpergewicht und absolutes Hodengewicht seien streng korreliert (KOHN et al. 1954). Nach jüngsten Berechnungen unserer Arbeitsgruppe anhand sämtlicher seit 1967 angefallener Kontrolltiere ist die Korrelation jedoch nur locker: Bestimmtheitsmaß r^2 0,076, Regressionskoeffizient b = 5,79, dessen t = 1,258 und P weniger als 0,3.

Fazit: Bei fünfmaliger fraktionierter Anwendung von Aase im 48-Stunden-Rhythmus in Tagesdosenvon 800 IU/kg (Gesamtdosis 4000 IU/kg) findet sich kein Hemmeffekt auf das relative Hodengewicht von Mäusen; auch in simultaner Kombination mit gleichartig fraktioniert verabreichten ionisierenden Strahlen ist kein Kumulationseffekt in Bezug auf eine Verminderung des Hodengewichtes zu verzeichnen.

B. Feststellungen bezüglich der Abheilungsgeschwindigkeit von Ohrstanzlöchern von Mäusen nach Strahlen-, Asparaginase- und kombinierter Behandlung

In der Zeit vom 2.2.1970 bis 3.4.1970 lief der Versuch mit 94 weiblichen Mäusen mit einem Durchschnittsgewicht von 25 g, bei denen beide Ohren gestanzt und direkt anschließend das rechte Ohr mit 1000 R belegt wurde. 44 dieser Tiere erhielten am Bestrahlungstag je 800 IU/kg Aase. 5 Tiere starben während der Behandlung an Injektionsfolgen. Von den Überlebenden wiesen drei rechte und ein linkes Ohr Stanzfehler auf. Beurteilt werden konnten daher nur 89 Tiere mit 86 rechten und 88 linken Ohren, die sich in folgende Gruppen einreihen ließen:

47 Kontrollen li. = unbestrahlt, kein Medikament

46 Kontrollen re. = bestrahlt mit 1000 R, kein Medikament

41 Aase li. = unbestrahlt, 16mal 800 IU/kg Aase

40 Aase re. = bestrahlt mit 1000 R, 16mal 800 IU/kg Aase

Der Gewichtszuwachs betrug bis zum 20. Tag bei den Kontrolltieren 2,5 g, bei den Aasetieren 0,5 g; bis zum 30. Tag waren es 4,5 bzw. 5 g; bis zum 40. Tag 6,6 bzw. 6 g und bis zum 50. Tag jeweils 7 g. Aus diesen Ergebnissen darf geschlossen werden, daß unter der fortgesetzten Aasebehandlung der Tiere deren Allgemeinbefinden zwar anfangs, nicht aber auf Dauer deutlich litt.

Tabelle 3 liefert die Verteilung der Ohrbefunde auf die vier Stadien über die Zeit in absoluten Zahlen. Eine Verkleinerung zeigt die Hälfte der Stanzlöcher der unbestrahlten Kontrollohren und der unbestrahlten Asparaginaseohren nach 8 Tagen; bei den bestrahlten Kontrollohren war dies nach 16 Tagen, bei den bestrahlten Asparaginaseohren nach 24 Tagen der Fall. Bei den unbestrahlten Kontrollohren war die Hälfte der Löcher nach 15 Tagen zugeheilt, bei den unbestrahlten Asparaginaseohren nach 20 Tagen, bei den

TABELLE 3: Verteilung der Befunde an Stanzlöchern bei unbestrahlten wie mit 1000 R einzeitig belegten Ohren unbehandelter Mäuse und ebenso behandelter Ohren bei mit 16 x 800 IU/kg L-Asparaginase (Aase) in 31 Tagen behandelten Tieren.
0 = Loch größer; I = so groß wie; II = kleiner als bei Stanzung; III = Loch geschlossen

		Versuchstage																					
		3.	5.	7.	9.	11.	13.	15.	17.	19.	21.	23.	25.	27.	29.	31.	33.	37.	41.	45.	49.	53.	57.
unbehandelt	0	-	-	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	I	47	47	35	17	15	6	4	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N=47	II	-	-	10	28	27	28	17	15	16	15	10	7	5	4	4	3	2	2	2	2		2
	III	-	-	1	1	4	13	26	30	31	32	37	40	42	43	43	44	45	45	45	45		45
1000 R	0	-	-	3	4	8	5	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	1	-		-
	I	46	46	42	41	32	30	28	21	19	17	15	11	8	6	4	4	3	1	2	2		-
N=46	II	-	-	1	1	5	10	12	17	18	20	20	20	22	17	18	16	17	12	11	12		12
	III	-	-	-	-	1	1	3	5	6	6	8	12	13	20	22	24	24	31	32	32		34
16 x	0	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-
800 IU/kg	I	41	41	28	10	4	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-
Aase	II	-	-	9	31	36	36	34	32	23	16	9	4	4	4	4	4	3	2	1	-		-
N=41	III	-	-	-	-	1	4	6	9	18	25	32	37	37	37	37	37	38	36	40	41		41
1000 R	0	-	2	16	8	9	6	9	8	8	8	5	3	2	2	2	2	1	-	-	-		-
16 x	I	40	38	22	30	29	32	29	27	27	21	21	16	15	9	7	6	6	5	4	2		2
800 IU/kg	II	-	-	2	2	2	2	2	5	5	11	13	17	17	21	22	20	19	17	11	11		10
Aase	III	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	4	6	8	9	12	14	18	25	27		28

bestrahlten Kontrollohren nach 32 Tagen, bei den bestrahlten Asparaginaseohren nach 42 Tagen. Die Verlängerung der mittleren logarithmischen Heilungszeit durch eine Behandlung mit 1000 R betrug also 17 Tage, durch Aase allein 5 Tage, in Verbindung mit 1000 R jedoch 27 Tage. Abbildung 6 macht diese Verhältnisse graphisch deutlich.

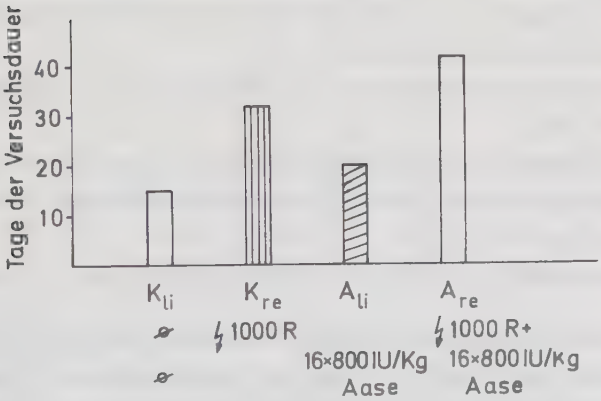


Abbildung 6: Mittlere logarithmische Heilungszeit von Stanzlöchern unbestrahlter Ohren unbehandelter Kontrolltiere, mit 1000 R einzeitig belegter Ohren unbehandelter Tiere, unbestrahlter Ohren von mit 16mal 800 IU/kg L-Asparaginase (Aase) innerhalb von 31 Tagen sowie von mit 1000 R bestrahlter Ohren von Asparaginasetieren.

In Tabelle 4, die die Relativzahlen zu dem jeweiligen Wert der Tabelle 3 enthält, erfolgt die Gegenüberstellung von unbehandelten, allein radiologisch behandelten, allein zytostatisch behandelten und kombiniert radiologisch-zytostatisch behandelten Tieren. Die Stadien 0 und I sind hierbei zusammengefaßt, was bedeutet, daß die Prozentsätze von Ohrlöchern ermittelt werden, die sich zu dem jeweilig angegebenen Zeitpunkt noch nicht verkleinert hatten. Auch die im t-Test errechneten Irrtumswahrscheinlichkeiten der Differenzen zwischen den einzelnen Gruppen sind in Tabelle 4 enthalten. Differenzen der Prozentsätze bereits verkleinerter Stanzlöcher, die sich mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit unter 5 % sichern lassen, ergeben sich beim Vergleich von

unbestrahlten Kontrollohren und unbestrahlten Aase-Ohren nur am 11. Tag,

unbestrahlten und bestrahlten Aase-Ohren vom 7. bis zum 45. Tag,

bestrahlten Aase-Ohren und bestrahlten Kontrollohren vom 13. bis zum 23. Tag,

bestrahlten und unbestrahlten Kontrollohren vom 7. bis zum 37. Tag.

Die Tabelle 5 macht deutlich, welche Prozentsätze von Ohrlöchern noch den Stadien 0 bis II angehören, also sich zu den jeweiligen Zeitpunkten noch nicht geschlossen hatten. Differenzen dieser Prozentsätze zwischen den einzelnen Gruppen, die mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 5 % sicherbar sind, ergeben sich beim Vergleich von

unbestrahlten Kontrollohren und unbestrahlten Aase-Ohren vom 13. bis zum 19. Tag,

unbestrahlten und bestrahlten Aase-Ohren vom 13. bis zum 61. Tag,

bestrahlten Aase-Ohren und bestrahlten Kontrollohren vom 17. bis zum 45. Tag,

bestrahlten und unbestrahlten Kontrollohren vom 13. bis zum 61. Tag.

Abbildung 7 liefert eine graphische Darstellung der Angaben aus Tabelle 5.

TABELLE 4: Prozentsätze noch nicht kleiner gewordener Stanzlöcher (Stadien 0 und I) der in Tabelle 3 dargestellten Gruppen. Wahrscheinlichkeiten P der Differenzen der Befunde nach dem t-Test.

N		Versuchstage 3.	5.	7.	9.	11.	13.	15.	17.	19.	21.	23.	25.	27.	29.	31.	33.	37.	41.	45.	49.	53.	57.
47	unbehandelt	100	100	76,6	38,3	34,0	12,8	8,5	4,3	4,3	0												
41	Aase	100	100	78,0	24,4	9,8	2,4	2,4	0	0	0												
	P <	1	1	0,9	0,2	0,01	0,1	0,2	0,2	0,2	1												
46	1000 R	100	100	97,8	97,8	87,0	76,1	67,4	52,2	47,8	43,5	39,1	30,4	23,9	19,6	13,0	13,0	10,9	6,5	6,5	4,3	0	
47	unbehandelt	100	100	76,6	38,3	34,0	12,8	8,5	4,3	4,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	P <	1	1	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,05	0,2	0,2	0,2	1	
40	1000 R Aase	100	100	95,0	95,0	95,0	95,0	95,0	87,5	87,5	72,5	65,0	47,5	42,5	27,5	22,5	20,0	17,5	12,5	10,0	5,0	5,0	
46	1000 R	100	100	97,8	97,8	87,0	76,1	67,4	52,2	47,8	43,5	39,1	30,4	23,9	19,6	13,0	13,0	10,9	6,5	6,5	4,3	0	
	P <	1	1	0,5	0,5	0,2	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,2	0,1	0,4	0,3	0,5	0,5	0,5	0,6	0,9	0,2	
41	Aase	100	100	78,0	24,4	9,8	2,4	2,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
40	1000 R Aase	100	100	95,0	95,0	95,0	95,0	95,0	87,5	87,5	72,5	65,0	47,5	42,5	27,5	22,5	20,0	17,5	12,5	10,0	5,0	5,0	
	P <	1	1	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,05	0,2	0,2	0,2	1	

TABELLE 5: Prozentsätze der Stanzlöcher, die sich noch nicht geschlossen haben (Stadien 0, I und II) der in Tabelle 3 dargestellten Gruppen. Wahrscheinlichkeiten P der Differenzen nach dem t-Test

N		Versuchstage 3.	5.	7.	9.	11.	13.	15.	17.	19.	21.	23.	25.	27.	29.	31.	33.	37.	41.	45.	49.	53. 57.
47	unbehandelt	100	100	97,9	97,9	91,5	72,3	44,7	36,2	34,0	31,9	21,3	14,9	8,5	8,5	6,4	4,3	4,3	4,3	4,3	4,3	4,3
41	Asparaginase	100	100	100	100	97,6	90,2	85,4	78,0	56,1	39,0	22,0	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	7,3	4,9	2,4	0	0
	P <	1	1	0,5	0,5	0,2	0,05	0,01	0,01	0,05	0,5	0,9	05	0,9	0,9	0,6	0,4	0,6	0,9	0,7	0,2	0,2
46	1000 R	100	100	100	100	97,8	97,8	93,5	89,1	87,0	87,0	82,6	73,9	71,7	56,5	52,2	47,8	47,8	32,6	30,4	30,4	26,1
47	unbehandelt	100	100	97,9	97,9	91,5	72,3	44,7	36,2	340	31,9	21,3	14,9	8,5	8,5	6,4	4,3	4,3	4,3	4,3	4,3	4,3
	P <	1	1	0,5	0,5	0,2	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
40	1000 R Asparaginase	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	97,5	90,0	85,0	80,0	77,5	70,0	65,0	55,0	37,5	32,5	30,0
46	1000 R	100	100	100	100	97,8	97,8	93,5	89,1	87,0	87,0	82,6	73,9	71,7	56,5	52,2	47,8	47,8	32,6	30,4	30,4	26,1
	P <	1	1	1	1	0,4	0,4	0,2	0,05	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,05	0,2	0,05	0,5	0,9	0,7
41	Asparaginase	100	100	100	100	97,6	90,2	85,4	78,0	56,1	39,0	22,0	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	7,3	4,9	2,4	0	0
40	1000 R Asparaginase	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	97,5	90,0	85,0	80,0	77,5	70,0	65,0	55,0	37,5	32,5	30,0
	P<	1	1	1	1	0,5	0,05	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

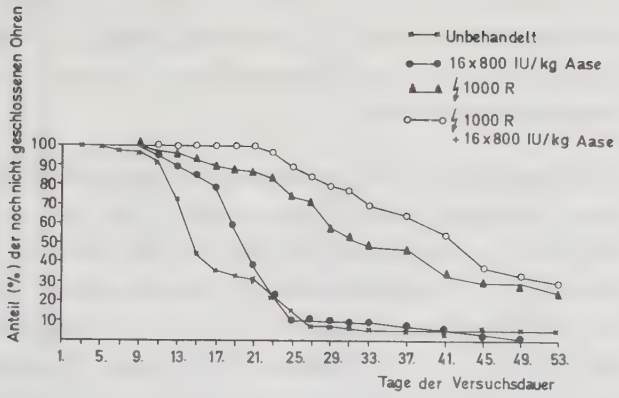


Abbildung 7: Verlauf der Abheilung von Stanzlöchern in unbestrahlten und einzeitig mit 1000 R belegten Ohren von Gruppen unbehandelter und mit 16 x 800 IU/kg L-Asparaginase (Aase) i.p. behandelter Mäuse.

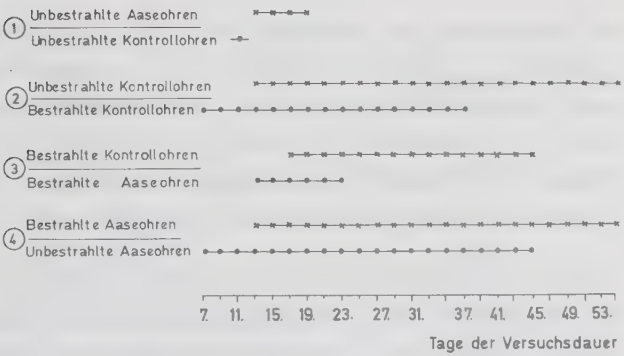


Abbildung 8: Graphische Darstellung der Differenzen, die sich in den Tabellen 4 und 5 ergaben, soweit mit Irrtumswahrscheinlichkeiten von weniger als 5 % gesichert. ~~x x x~~ = Zeitraum, in dem gesicherte Differenzen der Prozentsätze noch nicht geschlossener Stanzlöcher bestehen. ~~o o o~~ = Zeitraum, in dem gesicherte Differenzen noch nicht kleiner gewordener Stanzlöcher bestehen.

In Abbildung 8 sind die Zeiträume graphisch dargestellt, in denen statistisch sicherbare Differenzen der Prozentsätze noch nicht kleiner gewordener und noch nicht geschlossener Ohren zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen bestehen.

Fazit: Demnach hat im 48-Stunden-Rhythmus über 31 Tage fraktionierte Aase-Behandlung in Einzeldosen von 800 IU/kg einen im Ohrlochtest nachweisbaren, gering hemmenden Effekt auf die Wundheilung, der deutlicher wird, wenn eine radiogen induzierte Hemmung hinzutritt. Ob es sich nur um ein Additionsphänomen oder um einen synergistischen Effekt im Sinne der Definition von SARTORELLI (1965) handelt, vermag das Modell nicht auszusagen, da mit aller Wahrscheinlichkeit Heilungsneigung und Heilungsgeschwindigkeit der Stanzlöcher sich mit fortschreitender Zeit zunehmend verlangsamen.

C. Feststellungen bezüglich der Veränderung der Reaktion des teilbestrahlten Mäuseschwanzes durch L-Asparaginase-Nachbehandlung

Die Versuche mit 108 weiblichen, im Mittel 23,5 g schweren NMRI-Mäusen liefen vom 17.1.1970 bis zum 30.3.1970. Die Teilschwanzbestrahlung erfolgte einzeitig mit 8000 R. 48 der Tiere bekamen anschließend und dann jeden 2. Tag bis zum 39. Tag je 600 IU/kg Aase in 0,2 ml phys. Kochsalzlösung. Die übrigen 60 Tiere dienten als Kontrollen. Zwischenzeitliche Ausfälle von Tieren waren nicht zu verzeichnen.

Bis zum 10. Tag betrug der Gewichtszuwachs 2,03 g bei den nur bestrahlten Kontrolltieren und 1,59 g bei den mit Aase nachbehandelten Tieren, bis zum 22. Tag waren es 3,32 g und 3,53 g; bis zum 34. Tag lag der mittlere Gewichtszuwachs bei den Kontrolltieren bei 3,74 g und bei den Aasetieren bei 3,89 g, bis zum 46. Tag bei 6,09 g und 5,50 g. Bis zum 58. Tag schließlich hatten die Kontrollen 10,41 g, die Aasetiere 8,39 g zugenommen, wobei letzterer Wert allerdings aller Wahrscheinlichkeit nach das Ergebnis eines zweitägigen, versehentlichen Dürstens der mit Aase nachbehandelten

TABELLE 6: Verteilung der Schwanzbefunde auf verschiedene Reaktionsstadien nach Teilbestrahlung von Mäuseschwänzen mit 8000 R allein sowie bei Nachbehandlung mit 20 x 600 IU/kg L-Asparaginase (Aase) innerhalb von 39 Tagen. 0 = ohne Reaktion; E = Erythem, Ö = Ödem; K = erosive Reaktion (Krustenbildung); H = narbige Abheilung im Bestrahlungsbereich; St = Stauungsödem; N = Nekrose; A = Amputation des distalen Schwanzabschnittes

		Versuchstage																				
	Stadien	10.	13.	16.	19.	22.	25.	28.	31.	34.	37.	40.	43.	46.	49.	52.	55.	58.	61.	64.	67.	70.
	0	60	51	10																		
	E		9	42	6																	
	Ö			8	34	10																
8000 R	K				20	47	20	10	3	1												
N=60	St					3	36	38	38	16	8	7	6	6	2	2	2	1				
	N						4	12	17	27	27	10	6	4	6	2	2	2				
	A								1	14	29	41	46	48	50	54	54	55	57	57	57	57
	H								1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3
	0	48	48	43	39	13	9															
	E			5	7	26	14	6	1													
8000 R	Ö				2	8	12	15	5													
20x600	K					1	13	24	22	17												
IU/kg	St							2	18	27	35	29	10	7	6	4	4	1				
Aase	N							1	2	4	9	11	18	14	8	9	4	5	5	5	3	2
N=48	A										4	8	20	27	34	35	40	41	42	42	44	45
	H																	1	1	1	1	1

TABELLE 7: Teilschwanzbestrahlung. Relativwerte zu den Werten der Tabelle 6

	Stadien	Versuchstage 10.	13.	16.	19.	22.	25.	28.	31.	34.	37.	40.	43.	46.	49.	52.	55.	58.	61.	64.	67.	70.
	0	100	85,3	16,7																		
	E		15,7	70,0	10,0																	
8000 R	Ö			13,5	56,7	16,7																
	K				33,3	78,3	33,3	16,7	5,0	1,7												
N=60	St					5,0	60,0	63,3	63,3	26,7	13,3	11,7	10,0	10,0	3,3	3,3	3,3	1,7				
	N						6,7	20,0	28,3	45,0	35,0	16,7	10,0	6,7	10,0	3,3	3,3	3,3				
	A								1,7	23,3	48,3	68,3	76,7	80,0	83,3	90,0	90,0	91,7	95,0	95,0	95,0	95,0
	H								1,7	3,3	3,3	3,3	3,3	3,3	3,3	3,3	3,3	3,3	5,0	5,0	5,0	5,0
	0	100	100	89,6	81,2	27,1	18,7															
8000 R	E			10,4	14,6	54,2	29,2	12,5	2,1													
20 x	Ö				4,2	16,7	25,0	31,2	10,4													
600 IU/kg	K					2,1	27,1	50,0	45,8	35,4												
Aase	St							4,2	37,5	56,2	72,9	60,4	20,8	14,6	12,5	8,3	8,3	2,1				
	N							2,1	4,2	8,3	18,7	22,9	37,5	29,2	16,7	18,7	8,3	10,4	10,4	10,4	6,2	4,2
N=48	A										8,3	16,7	41,7	56,2	70,8	72,9	83,3	85,5	87,5	87,5	91,7	93,7
	H																	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1

TABELLE 8: Wahrscheinlichkeiten P der prozentualen Differenzen des Anteils der Stadien nach a. alleiniger Teilschwanzbestrahlung mit 8000 R (N=60), b. zusätzlicher Nachbehandlung mit 20 x 600 IU/kg L-Asparaginase innerhalb von 39 Tagen (N=48)

	Versuchstage 10.	13.	16.	19.	22.	25.	28.	31.	34.	37.	40.	43.	46.	49.	52.	55.	58.	61.	66.
	Lokal noch nicht reagierende Schwänze (% 0)																		
a	100	85,0	16,7	0	0	0	0												0
b	100	100	89,6	81,2	27,1	18,7	0												0
P <	1	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	1												1
	Lokales Erythemstadium noch nicht überschritten (% 0+ E)																		
a		100	86,7	10,0	0	0	0	0											0
b		100	100	95,8	81,2	47,9	12,5	2,1	0										0
P <		1	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,4	1										1
	Lokales Ödemstadium noch nicht überschritten (% 0+E+Ö)																		
a			100	66,7	16,7	0	0	0	0										0
b			100	100	97,9	72,9	43,7	12,5	0										0
P <			1	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	1										1
	Noch keine Reaktion jenseits des Bestrahlungsbereiches (% 0+E+Ö+K+H)																		
a				100	95,0	33,3	16,7	6,7	5,0	3,3									3,3
b				100	100	100	93,7	58,3	35,4	0									2,1
P <				1	0,2	0,01	0,01	0,01	0,01	0,3									0,8
	Noch keine Nekrose distal des Bestrahlungsbereiches (% 0+E+Ö+K+St+H)																		
a					100	93,3	80,0	70,0	31,7	16,7	15,0	13,3	13,3	6,7	6,7	6,7	5,0	5,0	5,0
b					100	100	97,9	95,8	91,7	71,9	60,4	20,8	14,6	12,5	8,3	8,3	4,2	2,1	2,1
P <					1	0,1	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,4	0,9	0,3	0,8	0,8	0,9	0,5	0,5
	Keine Amputation des distalen Schwanzabschnittes (% 0+E+Ö+K+St+N+H)																		
a							100	98,3	76,7	51,7	31,7	23,3	20,0	16,7	10,0	10,0	8,3	5,0	5,0
b							100	100	100	91,7	83,3	58,3	43,7	29,2	27,1	16,7	14,6	12,5	8,3
P <							1	0,5	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,2	0,02	0,4	0,4	0,2	0,6

Tiere war. Demnach dürfte die den Tieren während fast 5 Wochen verabfolgte Aasedosis keinen wesentlichen Einfluß auf das Allgemeinbefinden der Tiere gehabt haben, die sich auch in ihrem Verhalten nicht von den Kontrolltieren unterschieden.

Tabelle 6 liefert die Verteilung der Schwanzbefunde auf die verschiedenen Stadien vom 10. bis zum 73. Tag von Kontrolltieren und mit Aase behandelten Tieren in absoluten Zahlen. Die dazugehörigen relativen Angaben finden sich in Tabelle 7. Bereits hier wird deutlich, daß die Strahlenreaktion der Schwänze der mit Aase nachbehandelten Tiere verzögert verläuft. Welche Stadien von der Verzögerung betroffen sind, zeigt Tabelle 8, die eine Aufstellung der im t-Test errechneten Irrtumswahrscheinlichkeiten der Differenzen der prozentualen Häufigkeiten der verschiedenen Stadien zwischen den allen mit 8000 R teilschwanzbestrahlten Tieren und den zusätzlich mit Aase nachbehandelten Tieren enthält:

Vom 13. bis zum 25. Tag der Versuchsdauer war der Prozentsatz von Tieren, die eine sichtbare lokale Reaktion im Bestrahlungsareal, d. h., mindestens ein Erythem zeigten, mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 1 % in der Aasegruppe kleiner als bei den Kontrollen. -

Der Übergang vom Erythem ins Ödemstadium des bestrahlten Bereiches war mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 2 % vom 16. bis zum 28. Tag bei den Aasetieren gegenüber den ausschließlich bestrahlten Tieren verzögert. -

Ebenfalls mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 2 % war vom 19. bis zum 31. Tag statistisch sicherbar, daß weniger der unter Aase stehenden Tiere eine lokale erosive Reaktion zeigten als es bei den Kontrolltieren der Fall war. -

Auch der Übergang von der erosiven Reaktion im bestrahlten Bereich zum Stauungsödem jenseits davon trat vom 25. bis zum 34. Tag mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 1 % bei den Aasetieren verzögert ein. -

Vom 28. bis zum 40. Tag war es schließlich bei den zytostatisch nachbehandelten Tieren zu weniger nekrotischen und vom 34. bis zum 46. Tag zu weniger amputierten distalen Schwanzabschnitten gekommen als bei den Kontrolltieren, beides gesichert mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 1 %. -

Den Endausgang der Strahlenreaktion jedoch vermochte die langdauernde Aase-Nachbehandlung nicht zu ändern: Narbige Ausheilungen an der bestrahlten Stelle statt Amputation waren bei den Kontrolltieren in 5 %, bei der Aasegruppe in 8,3 % zu beobachten, was mit $P < 0,6$ statistisch nicht sicherbar ist.

Fazit: Durch Gaben von 20 x 600 IU/kg Aase in einem Zeitraum von 40 Tagen nach Teilbestrahlung von Mäuseschwänzen mit einer nekrotisierenden Dosis wurde keine Beeinflussung des Allgemeinverhaltens der Tiere bedingt. Der Ablauf der Strahlenreaktion wurde in allen Stadien etwa gleichmäßig gegenüber nur bestrahlten Kontrolltieren verzögert, ohne daß sich am Endausgang etwas geändert hätte.

VII. Diskussion der Ergebnisse

Erhielten erwachsene Mäusemännchen eine gezielte, fünffach fraktionierte, skrotale Bestrahlung von insgesamt 100 R in 9 Tagen, betrug nach weiteren 11 Tagen die Verminderung der mittleren absoluten und relativen Hodengewichte etwa 30 % der Kontrollwerte. Wurden Mäusemännchen in gleicher Fraktionierung mit 4000 IU/kg Aase behandelt, war keine entsprechende Reduktion zu verzeichnen, wie auch bei simultaner Kombination beider Agentien in gleicher Dosierung und Fraktionierung kein verstärkender Effekt der Aase auf die Auswirkung der ionisierenden Strahlen zu bemerken. Es ist kein Grund ersichtlich, weshalb diese, im Tierexperiment gewonnenen Ergebnisse nicht direkt auf die Humanklinik übertragbar sein sollten. Es ist auch in keiner Weise verwunderlich, daß Aase an germinativen Organen keine grob erfaßbaren Wirkungen verursacht, ist die Substanz doch das

einzige Zytostatikum, das die normale Hämatopoese kaum beeinträchtigen soll (OETTGEN et al. 1969; SCHMIDT 1968), sondern nur wenige aasesensible Zellsysteme leukämischer Art wie allerdings auch die Leberzellfunktion (HOROWITZ et al. 1969 a-c) und damit die Produktion plasmatischer Gerinnungsfaktoren wie von Serumalbuminen allgemein (CANELLOS et al. 1969; CAPIZZI et al. 1969; BETTIGOLE et al. 1969; GALLMEYER et al. 1969; GROSS et al. 1969; GRUNDMANN 1969; HARRIS et al. 1969; OETTGEN et al. 1969). Wir hatten den negativen Ausgang unserer Untersuchungen bezüglich Beeinflussung der Testes durch Aase so erwarten dürfen.

Auch bei den weiteren Versuchsansätzen konnten wir nicht annehmen, positive Ergebnisse zu erhalten. Zu unserem Erstaunen kam es aber anders: Zum einen fand sich im Ohrstanzlochtest, in dem die spontane logarithmische Heilungszeit 14 Tage und nach einzeitiger Belegung eines Ohres mit 1000 R 17 Tage beträgt, daß diese bei fraktionierter Aasegabe von 12.800 IU/kg über 31 Tage um 5 Tage, in Verbindung mit 1000 R jedoch um weitere 10 Tage verzögert ist. Zum anderen unterschied sich das Enzym Aase in seiner, den Reaktionsablauf in allen Stadien gleichermaßen verzögernden Wirkung von Endoxan, Natulan und Proresid (RINGLEB 1967, et al. 1968 d, 1969 a) wie Aktinomycin (SIPPEL 1970) nicht, wenn 12000 IU/kg in 39 Tagen zur zytostatischen Nachbehandlung nach Teilschwanzbestrahlung mit einer nekrotisierenden Dosis eingesetzt wurden.

An der Ausheilung der Ohrstanzlöcher sind mesenchymale und epitheliale Anteile beteiligt (RAUSCH et al. 1962), ebenso wie solche am Ablauf der Strahlenreaktion teilhaben, wobei Desquamation, Epilation und Erosion in erster Linie die Schädigung des Epithels, Erythem und Ödem die des angiomesenchymalen Systems deutlich machen; die folgende narbige Ausheilung ist als Leistung beider Systeme, Nekrose und Amputation hingegen sind als Folge von Gefäßverschlüssen anzusehen. Der Schluß scheint berechtigt, daß mesenchymale und/oder epitheliale granulative Proliferation von einer lokalen oder hepatischen Proteinsynthese begleitet ist oder von ihr abhängen, die durch Aasemedikation gestört wird. Bei radiologisch-zytostatischer

Kombinationsbehandlung mit Aase muß es dann zu einer kumulativen Schädigung der Funktion des Gefäß-Bindegewebs-Apparates und zu einer Verzögerung des Ablaufs bindegewebiger Reaktionen kommen, die über die radiogen bedingten hinaus gehen.

Es zeigt sich die wichtige Möglichkeit, daß an strahlentherapeutische Maßnahmen anschließende Aase-Nachbehandlung zur Beeinträchtigung der Abräumfunktion, wie RINGLEB (1967) die geschwulstbeseitigende Wirkung des peritumoralen Bindegewebes bezeichnet, führen könnte (COTTIER 1966; EYMER 1952; RIES et al. 1964; RIESSBECK 1959). Experimente zur Verifizierung dieser wichtigen Hypothese sind in unserer Arbeitsgruppe angelaufen. Wahrscheinlich ist eine chemotherapeutische Synkarzinolyse (BAUER 1969) auch mit Aase als Zytostatikum nur über eine, zwar nicht allgemeine, aber doch beachtliche Synzytostase (RINGLEB 1967) denkbar.

VIII. Zusammenfassung

Es wird über die Wirkung fraktionierter alleiniger L-Asparaginase-, wie simultan kombinierterRöntgen-L-Asparaginase-Behandlung auf das Hodengewicht von Mäusen, über den Effekt zytostatischer Nachbehandlung mit L-Asparaginase allein wie nach Röntgenbestrahlung von Mäuseohrstanzlöchern und über den Ablauf der Strahlenreaktion unter L-Asparaginase-Nachbehandlung nach Applikation einer nekrotisierenden Dosis auf einen Mäuseschwanzabschnitt berichtet. Alleinige L-Asparaginase-Medikation reduziert das Hodengewicht nicht, führt jedoch zu einer im Ohrstanzlochtest nachweisbaren Wundheilungshemmung. An granulativem, hingegen nicht an germinativem Proliferationsgewebe werden synzytostatische Effekte nachgewiesen. Der zeitliche Ablauf der Strahlenreaktion wird unter Asparaginase-Nachbehandlung in allen Stadien verzögert. Daraus wird die Vermutung abgeleitet, daß mesenchymale Reaktionen von einer lokalen oder hepatischen Proteinsynthese abhängen oder von ihr begleitet sind, die durch L-Asparaginase gestört wird.

IX. Literaturverzeichnis

Adamson, R.H., S. Fabro:
Cancer Chemother. Rep. 52 (1968), 617

Alinis, A., H.M. Kurtz, P.I. Kramer, H.E. Weimer, R.M. Ryan, E. Jameson:
Cancer Res. 18 (1959), 1309

Aschoff, J.:
In: Die Welt der Versuchstiere; hergb. v. W.H. Weihe; Berlin-Stuttgart 1964; S. 43

Aurand, K.:
Inaug. Diss. Med. Frankfurt 1949

Bach, S.J., D. Swaine:
Brit. J. Cancer 19 (1965), 379

Bane, H.N., J.T. Conrad, G.S. Tarnowski:
Cancer Res. 17 (1957), 551

Barth, G., D. Ringleb:
In: Therapie maligner Tumoren; hergb. v. E. Holder, F. Meythaler, R. du Mesnil de Rochemont; 1. Bd.; Stuttgart 1966; S. 824

Barth, G., G. v. Freier, H. Graebner, D. Ringleb:
Strahlentherapie 124 (1964), 137

Bauer, K.:
Med. Klinik 64 (1969), 9

Becker, F.F., J.D. Broome:
Science 156 (1967), 1602

Becker, J.:
In: Klinische Radiologie; hergb. v. G. Barth, J. Becker, R. Kraus, E. Scheer; Stuttgart-New York 1969; S. 397

Bergonié, J., L. Tribondeau:
Cpte. rend. habdom. des séance de lácad. des science 143 (1906), 938

Bettigole, R.E., E.S. Himmelstein, H.F. Oettgen, G.O. Clifford:
Clin. Res. 17 (1968), 399

Boiron, M., C. Jaquillat, M. Weil, J. Tanzer, J. Bernard:
Presse méd. 76 (1968), 2099 (a)

Boiron, M., M. Thomas:
Concours méd. 90 (1968), 6956 (b)

Boyse, E.A., L.J. Old, H.A. Campbell, L.T. Maschburn:
J. exp. Med. 125 (1967), 17

Broome, J.D.:
Nature 191 (1961), 1114

Broome, J.D.:
Trans. N.Y. Acad. Sci. 30 (1968), 690

Broome, J.D., J.H. Schwartz:
Biochem. biophys. acta 138 (1967), 637

Campbell, H.A., L.T. Mashburn, E.A. Boyse, L.J. Old:
Biochemistry 6 (1967), 721

Canellos, G.P., C.M. Haskell, J. Arseneau, P.P. Carbone:
Cancer. Chemother. Rep. 53 (1969), 67

Capizzi, R.L., R. Peterson, D.A. Cooney, W.A. Creasey,
R.E. Handschumacher:
Proc. Amer. Ass. Cancer Res. 10 (1969), 12

Carbone, P.P., C.M. Haskell, B.C. Leventhal, J.B. Block,
O.S. Selawry:
In: Grundmann, Oettgen, S. 236

Cardinali, G.:
Policlinico Sez. prat. 76 (1969), 276

Clementi, A.:
Arch. int. Physiol. 19 (1922), 369

Cooney, D.A., R.E. Handschumacher:
Proc. Amer. Ass. Cancer Res. 9 (1968), 15

Cottier, H.:
In: Handbuch der medizinischen Radiologie; hergb. v. L. Diethelm,
O. Ollson, F. Strnad, H. Vieten, A. Zuppinger; 2. Bd. 2. Tl.;
Berlin-Heidelberg-New York 1966; S. 35

Dolowy, W., R. Schreck, D. Henson, J. Cornett, E. Brown:
Nature 218 (1968, 1028

Druckrey, H., D. Steinhoffer, M. Nakayama, P. Preussmann,
K. Anger:
Dtsch. med. Wschr. 88 (1963), 651

Dustin, A.P.:
Nature 159 (1947), 794

Eichholtz, F.:
Lehrbuch der Pharmakologie; 9. Aufl.; Berlin-Göttingen-Heidelberg
1957; S. 18

Eschenbrenner, A.B., E. Miller:
Arch. Path. 50 (1950), 736

Eymer, H.:
Strahlentherapie 86 (1952), 320

Fletcher, G.H., H.D. Suit, C.D. Howe, M. Samuels, R.H. Jesse jr.,
R.U. Villareal:
Cancer 16 (1963), 355

Gallmeier, W.M., C.G. Schmidt:
Dtsch. med. Wschr. 93 (1968), 814

Gross, R., H.E. Bock:
In: Klinik der Gegenwart; hergb. v. R. Cobet, K. Gutzeit, H.E. Bock;
5. Bd.; München-Berlin-Wien 1957, S. 235

Gross, M.A., R.J. Speer, J.M. Hill:
Proc. Soc. exp. Biol. 130 (1969), 733

Grundmann, E.:
In: Fortschritte der Krebsforschung; hergb. v. C.G. Schmidt,
O. Wetter; Stuttgart 1969; S. 99

Grundmann, E.:
Klin. Wschr. 47 (1969), 61

Grundmann, E., H.F. Oettgen (Hergb.):
In: Experimental and clinical effects of L-asparaginase; Fortschritte der
Krebsforschung, Bd. 33; Berlin-Heidelberg-New York 1970

Halikowsky, B., S. Garwicz, J. Armata:
Lancet 1969/I, 423

Harris, J.E., J.P. Whitecar, G.P. Bodey, E.J. Freireich:
Proc. Amer. Ass. Cancer Res. 10 (1969), 35

Haskell, C.M., G.P. Canellos, B.G. Leventhal, P.P. Carbone,
J. B. Block, A.A. Serpick, O.S. Selawry:
New Engl. J. Med. 281 (1969), 1028

Heite, J.:
Arzneimittel-Forsch. 5 (1955), 151

Hill, J.M., J. Roberts, E. Loeb, K. Amanullha, A. MacLellan,
R.W. Hill:
J. Amer. med. Ass. 202 (1967), 882

Hobik, H.P.:
Naturwissenschaften 56 (1969), 217

Hodnett, E.M.:
Cancer chemother. Rep. 32 (1963), 55

Hoppe, L.:
Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 68 (1962), 259

Horowitz, B., B. Madras, A. Meister, L. Old, E.A. Boyse:
Proc. Amer. Ass. Cancer Res. 9 (1968) (a)

Horowitz, B., B. Madras, A. Meister, L.J. Old, E.A. Boyse,
E. Stockert:
Science 160 (1968), 533 (b)

Horowitz, B., A. Meister, B. Madras, L.J. Old, E. Boyse:
Chem. Eng. News 46 (1968), 13 (c)

Howe, C.D., G.H. Fletcher, M.L. Samuels, H.D. Suit:
Acta unio internat. contra cancrum 20 (1964), 400

Jameson, E., H. Ainis, R.M. Ryan:
Science 124 (1956), 980

Jung, S.:
Grundlagen für die Zucht und Haltung der wichtigsten Versuchstiere;
Stuttgart 1962

Karrer, K.:
3. Internat. Kongr. Chemother. Juli 1963; Stuttgart; 2. Bd.; S. 1081

Kidd, J.G.:
J. exp. Med. 98 (1953), 565

Kidd, J.G., J.E. Todd:
Proc. Soc. exp. Biolog. (N.Y.) 86 (1954), 781

Kim, J.H., E.A. Boyse, L.J. Old, H.A. Campbell:
Biochem. biophys. acta 158 (1968), 476

Kligermann, M.M.:
Proc. Confer. Res. Radiother. Madison 1960; S. 147

Kligermann, M.M.:
In: Progress in radiation therapy; hergb. v. F. Buschke; 3. Bd.; New York-London 1965, S. 183

Kohn, H.J., R.F. Kallmann:
Brit. J. Radiol. 27 (1954) 586

Kratz, L.:
Inaug. Diss. Med. Gießen 1970

Kwak, K.S., E.A. Jameson, M. Ryan, H.M. Kurtz:
Cancer Res. 21 (1961), 44

Loeb, E., J.M. Hill, N.O. Hill, A. MacLellan, A. Khan, J. R. Alexander, M. Adachi:
In: Grundmann-Oettgen, S. 204

Lorke, D., D. Tettenborn:
In: Grundmann-Oettgen, S. 174

Maisin, H.:
J. belge Radiol. 46 (1963), 391

Marquardt, H.:
Arzneimittel-Forsch. 18 (1968), 1380

Mashburn, L.T., C.S. Gordon:
Cancer Res. 28 (1968), 961

Mashburn, L.T., J.C. Wriston jr.:
Arch. Biochem. 105 (1964), 450

Miller, H.K., J.S. Salser, M.E. Balis:
Proc. Amer. Ass. Cancer Res. 9 (1968), 49

Mottram, J.S., L.H. Gray:
Brit. Radiol. 13 (1940), 161

NN:
Brit. Med. J. 1969/II, 465

NN:
Nachr. Chem. Techn. 16 (1968), 223

NN:
Dtsch. Ärztebl. 66 (1969), 9

Oerkermann, H.:
Med. Trib. (Dtsch. Ausg.) 4 (1969), 35

Oerkermann, H., W.D. Hirschmann, R. Gross:
In: E. Grundmann, H.F. Oettgen, S. 125

Oettgen, H.F., K. Schulten:
Klin. Wschr. 47 (1969), 65

Oettgen, H.F., L.J. Old, E.A. Boyse, H.A. Campbell, F.S. Phillips, B.D. Clarkson, L. Thallal, R.D. Leeper, M.K. Schwartz, J.H. Kim:
Blood 30 (1967), 852

Old, L.J., E.A. Boyse, H.A. Campbell, R.S. Brodney, J. Fidler, J.D. Teller:
Cancer 20 (1967), 1006 (a)

Old, L.J., E.A. Boyse, H.A. Campbell, R.S. Brodney, J. Fidler, J.D. Teller:
Lancet 1967/I, 447 (b)

Papac, R.J.:
In: Progress in radiation therapy; hergb. v. F. Buschke, 2. Bd.; New York-London 1962, S. 137

Pfeiff, H.:
Strahlentherapie 128 (1965), 376

Prager, M.D., N. Bachynsky:
Arch. Biochem. biophys. 127 (1968), 645

Prager, M.D., P.C. Peters, J.O. Janes, I. Derr:
Nature 221 (1969), 1064

Quast, E.:
Inaug. Diss. Med. Gießen 1966

Ramadam, M.E.A., F. El Asmar, D.M. Greenberg:
Arch. Biochem. 108 (1958), 143

Rausch, L.:
Strahlentherapie 115 (1961), 283

Rausch, L., E. Breitling, E. Unger:
Strahlentherapie 117 (1962), 377

Rausch, L.:
Strahlentherapie 118 (1962), 276 (a)

Rausch, L.:
Strahlentherapie 118 (1962), 550 (b)

Rausch, L.:
Strahlentherapie 127 (1965), 393

Rausch, L., E. Ander:
Sonderband 62 zur Strahlentherapie (1966), 198

Raventos, A.:
In: Current perspectives in cancer therapy; hergb. v.
W.S. Blackmoore; J. S. Ravdin; New York-London 1966; 58

Ries, J., W. Mehring:
Strahlentherapie 123 (1964), 167

Riessbeck, K.H.:
Zur Methodik der Röntgenbestrahlung bösartiger Geschwülste;
Leipzig 1959

Ringleb, D.:
Habil.-Schrift Med. Gießen 1967

Ringleb, D.:
Fortschr. Med. 86 (1968), 51 (a)

Ringleb, D.:
Strahlentherapie 133 (1968), 597 (b)

Ringleb, D.:
Strahlentherapie 135 (1968), 691 (c)

Ringleb, D.:
Strahlentherapie 136 (1968), 92 (d)

Ringleb, D.:
In: Fortschritte der Krebsforschung; hergb. v. C.G. Schmidt, O. Wetter; Stuttgart-New York 1969; S. 197

Ringleb, D.:
31. Tagg. Dtsch. Röntgenges., München 1970

Ringleb, D., H. Grundner:
Strahlentherapie 136 (1968), 320

Ringleb, D., M. Bosnar, R. Krieg, D. Sauer, R. Steckenmesser:
Strahlentherapie 138 (1969), 218 (a)

Ringleb, D., H. Grundner, R. Krieg, R. Steckenmesser:
Strahlentherapie 138 (1969) 680 (b)

Ringleb, D., R. Krieg, D. Sauer:
Strahlentherapie 138 (1969), 423 (c)

Rowley, B., J.G. Wriston:
Biochem. biophys. Res. Commun. 28 (1967), 160

Sartorelli, A.C.:
In: Fortschr. der experimentellen Tumorforschung; hergb. v. F. Homburger; 6. Bd.; Basel-New York 1965; S. 228

Sauer, H.D.:
Inaug. Diss. Med. Gießen 1968

Schaudig, H.:
Langenbecks Arch. klin. Chir. 301 (1962), 738

Schein, P.S., N. Rakieten, B.M. Gordon, D.P. Davis, D.P. Rall:
Cancer Res. 29 (1969), 426

Schmähl, D.:
Dtsch. med. Wschr. 94 (1969), 2249

Schmidt, C.G.:
Med. Trib. 3 (1968), 24

Schmidt, C.G., W.M. Gallmeier:
Dtsch. med. Wschr. 93 (1968), 2299

Schneider, E.:
Inaug. Diss. Med. Gießen 1967

Schrek, R., R.N. Ammeraal:
Science 155 (1967), 329

Schulten, H.K., G. Giraldo, E.A. Boyse, H.F. Oettgen:
Lancet 1969/II, 644

Schwartz, R.S.:
Nature 244 (1969), 275

Steckenmesser, R.:
Inaug. Diss. Med. Gießen 1968

Tallal, L., C. Tan, H.F. Oettgen, M. McCarthy, L. Helson, L. Murphy:
Proc. Amer. Ass. Cancer Res. 10 (1969), 92

Tallal, L, H.F. Oettgen:
Proc. Amer. Ass. Cancer Res. 9 (1968), 276

Trautmann, J.:
In: Strahlenpathologie der Zelle; hergb. v. E. Scherer.
H.S. Stender; Stuttgart 1963; S. 195

Vermund, H., F.F. Gollin:
Cancer 21, (1968), 58

Herrn Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. G. BARTH schulde ich Dank für die mir an seiner Klinik gebotene Arbeitsmöglichkeit; ebenfalls danke ich Herrn Prof. Dr. med. L. RAUSCH, dem Leiter der experimentellen Abteilung.

Besonders herzlich möchte ich Herrn Priv. Doz. Dr. med. D. RINGLEB für die Überlassung des Themas und die stets gewährte Hilfe danken.

LEBENSLAUF

Am 21. 12. 1946 wurde ich, Erika Sippel, geb. Buch als Tochter des Willy Buch und seiner Ehefrau Gisela geb. Wunderlich in Haunau/Main geboren.

Nach Besuch der Grundschule trat ich in die Karl-Rehbein-Schule, Realgymnasium für Mädchen in Hanau ein, wo ich 1966 die Reifeprüfung ablegte.

Zum Sommersemester 1966 immatrikulierte ich mich im Studienfach Medizin an der Justus Liebig-Universität in Gießen, wo ich mich 1967 mit Erfolg der wissenschaftlichen Vorprüfung unterzog und 1969 die ärztliche Vorprüfung bestand. 1972 legte ich hier das medizinische Staatsexamen ab.

Im Februar 1972 ging ich die Ehe mit dem Medizinalassistenten Walter Sippel aus Schenklengsfeld ein.

FOTO-DRUCK LENZ · 63 Gießen · Riegelpfad 32/Ecke Ludwigstraße
Telefon 0641 - 77449